УДК 543.42

АТОМНО-ЭМИССИОННЫЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ С ЦЕЛЬЮ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКО-МОНИТОРИНГА РАЙОНОВ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ И ГОРНОГО АЛТАЯ

В.И. Отмахов, Е.В. Петрова

Томский государственный университет
E-mail: otmah@mail.tomsknet.ru

Разработан единый подход к анализу объектов биологического происхождения методом атомно-эмиссионной спектроскопии. Рассмотрены особенности пробоподготовки биоматериалов применительно к данному методу, возможности количественного анализа элементов, основы и механизм их влияния на результаты количественного определения контролируемых микроэлементов

Введение

Мониторинг токсикатов отдельных экосистем показал необходимость исследования механизмов поступления вредных веществ в живые организмы. В конечном счете, именно они являются индикаторами загрязнения окружающей среды (ОС), которая накапливает эти вещества, а живущие в ней организмы потребляют их, становясь источниками загрязнения других представителей бионты, связанных с ними трофическими цепями. Особенно это касается гидробионтов, имеющих постоянный контакт с водной средой, куда, в конечном итоге, попадает основная масса загрязняющих веществ. Поэтому изучение биогенной миграции вещества в экосистемах является одной из главных задач современной экологии. Она не может быть решена без создания надежных высокочувствительных и селективных методов анализа биологических объектов на содержание различных токсикантов, в частности, тяжелых металлов. Последние, в отличие от органических загрязнителей, не разлагаются, а лишь перераспределяются между природными средами и, концентрируясь затем в живых организмах, проявляют высокую токсичность даже в следовых количествах.

Для определения широкого круга металлов целесообразно использование многоэлементных инструментальных методов анализа, в частности, метод атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС), отличающийся простотой, экспрессностью, низкими пределами обнаружения контролируемых компонентов и возможностью одновременного их определения с необходимыми метрологическими характеристиками.

Анализ микроколичеств элементов в биологических объектах – задача непростая для метода АЭС. Трудности заключаются в широком разнообразии проб, наличии в них сопутствующих мешающих элементов основы, которые, варьируя в широком диапазоне содержаний, влияют на процессы испарения и возбуждения атомов в источнике света и существенным образом искажают результаты определений.

Исследования, проводимые на кафедре аналитической химии и в аккредитованной научно-исследовательской лаборатории мониторинга окружающей среды Томского государственного университета, позволили разработать общий подход к анализу любых объектов биологического происхождения методом АЭС на содержание микроэлементов и токсичных металлов.

1. Подготовка проб к анализу

Образцы препарированных живых организмов (это могут быть целые тушки или отдельные органы и ткани) высушивают в сушильном шкафу до постоянной массы при температуре 105 °С. Сухие пробы тщательно растирают в агатовой ступке и хранят их в упаковке из полиэтиленовой пленки.

Прямой атомно-эмиссионный анализ биоматериала невозможен ввиду того, что органическая матрица не удовлетворяет, главным образом, условию более равномерного поступления всех элементов–примесей в зону электрического разряда. Поэтому подготовка проб, являясь важным звеном самого анализа, должна обеспечить полное удаление органических компонентов, постоянство содержания определяемых элементов и перевод их в форму, удобную для последующих операций анализа.

Из всех известных способов пробоподготовки (кислотная экстракция, мокрое и термическое озоление) предпочтительнее проводить сухое озоление, так как этот способ без дополнительного использования реактивов позволяет в едином цикле совместить минерализацию органической основы с получением аналитического концентрата, удобного для метода АЭС.

Ввиду противоречивости данных многих авторов [1, 2] о потерях контролируемых элементов или отсутствии их на стадии сухого озоления в лаборатории предложен комбинированный способ минерализации, пригодный для любых органических объектов. Он заключается в их предварительном обугливании минимальным количеством концентрированной H_2SO_4, высушивании полученного минерализата при 120…150 °С с последующим озолением в муфельной печи при постепенном нагреве от 0 до 400…450 °С до постоянной массы зольного остатка. Сульфаты большинства металлов, по сравнению с другими соединениями, имеют более высокие температуры кипения, поэтому комбинированный способ минерализации позволяет не только устранить потери летучих компонентов, но также исключить возгорание проб и "сухое разбрызгивание" при температуре 200…300 °С. Для интенсификации процесса минерализации, особенно мышечной ткани животных, озоление которых сухим способом затруднено, предложен способ озоления биологических проб в кварцевой трубчатой микропечи при дозированной подаче кислорода [3], а для более летучих органических матриц еще и в присутствии поглотителя, состоящего из

графитового порошка и диэтилдитиокарбамата натрия, который располагают на выходе газообразных продуктов [4]. Прозрачные стенки трубки-печи, нагреваемые с помощью спирали, позволяют визуально наблюдать процесс озоления и регулировать его в каждом конкретном случае, плавно меняя скорость подачи кислорода и температуру спирали.

Полученные зольные остатки тщательно растирают в тех же тиглях или чашках, в которых проводили озоление (лучше, если они изготовлены из плавленого кварца) с помощью кварцевого пестика или палочки. Степень измельчения проб на стадии высушивания и минерализации имеет большое значение. Она влияет на воспроизводимость определений и, весьма вероятно, на их точность через физический состав проб из-за локального концентрирования контролируемых элементов.

Выход золы количественно учитывают и используют в дальнейших пересчетах.

2. Валовое определение основных элементов в биологических объектах

Условия нагревания проб в кратере электрода, поступление паров в дуговое облако разряда и возбуждение определяются химическим составом образца. Поэтому природная вариабельность содержания макрокомпонентов может существенно влиять на интенсивность спектральных линий контролируемых примесей. Это влияние проявляется при анализе любых объектов ОС методом АЭС, но особенно значимо при анализе растительных и биологических проб, основу которых составляют легкоионизируемые щелочные и щелочноземельные элементы.

Основными элементами биологических проб являются Ca, Mg, Na и K. При выборе метода определения каждого из них необходимо разумно оценивать рентабельность методики. Несомненно, что определение K и Na лучше проводить методом пламенной фотометрии из растворов зольных остатков в 1,5 М хлористоводородной кислоте. Кальций и магний при совместном присутствии можно определять из этих же растворов методом комплексонометрического титрования. Этот метод дает удовлетворительные результаты при эквимолярном или превосходящем содержании Ca^{2+} по сравнению с Mg^{2+} [5]. Но данные элементы можно определить и методом АЭС. Известно немало попыток применить его для установления валового содержания Si, Al, Ca, Mg и других элементов в силикатных породах и почвах после предварительного сжигания органического вещества. Следует отметить два общепринятых пути решения этой задачи:

– использование для анализа слабых (малочувствительных) спектральных линий элементов;
– определение по чувствительным линиям после разбавления проб в 10…100 раз.

Второй путь более предпочтителен, так как в случае многократного разбавления зольных остатков угольным порошком (УП) или буфером макрокомпоненты переходят в разряд микропримесей, содержание которых может быть определено с использованием государственных образцов сравнения на основе УП [6].

Исследования показали, что правильность определений зависит от коэффициента разбавления. Его значение выбирают таким, чтобы оптическая плотность аналитических линий контролируемых элементов лежала в линейной области градуировочных характеристик. Опыт показывает, что для биологических проб коэффициент разбавления варьируется от 100 до 1000. Нами рекомендуется регистрировать спектры зольных остатков, разбавленных последовательно в 100, 500 и 1000 раз, и из них проводить выбор в зависимости от характера пробы и определяемого элемента. Если в качестве разбавителя использовать УП с 3 % Na в виде NaCl, то в плазме дугового разряда реализуются условия возбуждения, близкие к оптимальным. При таких условиях определения макрокомпонентов методом АЭС влияние их природной вариабельности на результаты анализа минимально.

В табл. 1 приведены данные количественного анализа основных компонентов зольных остатков полевых мышей (красная полевка, полевка-экономка, обыкновенная бурозубка), отлов которых проведен в поселках Сейка и Артыбаш (Алтай) с целью проведения экологического мониторинга данного региона и оценки влияния золоторудного комбината и ракетного полигона Байконур.

Сравнение результатов атомно-эмиссионного и титриметрического определений Ca и Mg по t-критерию показывает отсутствие между ними систематического расхождения.

Таблица 1. Анализ зольных остатков полевых мышей на содержание основных элементов (n = 5; p = 0,95)

Методы анализа	Концентрация элементов, % мас.			
	K	Na	Ca	Mg
Пламенно-фотометрический	12,3±0,6	3,7±0,2	5,5±0,3	–*
Атомно-эмиссионный	–*	–*	5,8±0,6	3,2±0,3
Титриметрический	–*	–*	5,4±0,3	3,5±0,2

– концентрация элементов указанным методом не определяется

3. Атомно-эмиссионное определение микроэлементов в зольных остатках биологических проб

Метод АЭС имеет свои специфические особенности и трудности, обусловленные сложностью процессов, протекающих в источнике возбуждения при переходе веществ из твердого состояния в парообразное. Анализ разнообразных биологических объектов показал, что содержание в них типичных макрокомпонентов (Ca, Mg, K, Na) может варьироваться в широких интервалах (табл. 2).

Известно, что при одновременном испарении
ззбуждения устанавли-
онный потенциал газа,
цественно наименьшим
элементов. Исходя из
ции макрокомпонентов
щения в пробах естес-
ибольшее влияние на
процессы испарения и возбуждения примесей будут

Таблица 2. Содержание основных макрокомпонентов в биоматериалах

Диапазон концентраций элементов, % мас.			
Na	K	Ca	Mg
3,0…30,0	10,0…30,0	0,5…15,0	0,3…6,0

оказывать Na и Ca.

Исследования показали, что по мере увеличения концентрации Ca и Na в анализируемой пробе происходит снижение температуры плазмы, увеличение электронной концентрации и, как следствие этого, уменьшение степени ионизации определяемых элементов. Причем изменение этих параметров значимо уже в присутствии 5 % мас. макрокомпонентов. Уменьшение степени ионизации должно привести к усилению интенсивности атомных линий контролируемых примесей, а снижение температуры плазмы дуги – к ее снижению, особенно в случае элементов с высокими потенциалами ионизации. Сравнение логарифмов отношений интенсивностей спектральных линий примесей ($\lg J_1 / J_2$) с матричными элементами (J_1) и без них (J_2) показывает (рис. 1), что в присутствии Na увеличивается интенсивность линий всех элементов, за исключением Be и Zn, которые имеют высокие потенциалы возбуждения. С увеличением концентрации интенсивность сначала возрастает, а затем плавно снижается, что хорошо согласуется с исследованиями других авторов и объясняется уменьшением температуры плазмы дуги (табл. 3). Присутствие в пробах Ca приводит к усилению всех линий без исключения. С увеличением его концентрации тенденция к сниже- нсивности сохраняется, что также связано с рным эффектом. Максимальное увеличение ности аналитических линий микроэлементов в присутствии элементов основы наблюдается в диапазоне концентраций последних от 2 до 5 % мас.

Термодинамические расчеты и экспериментально полученные данные указывают на то, что сложный характер зависимости величины аналитического сигнала микропримесей от концентрации матричных элементов обусловлен изменением параметров плазмы дугового разряда. Традиционным способом устранения матричных эффектов в спектральном анализе является разбавление проб УП или буфером. При этом преследуются две цели: уменьшение влияния состава основы на состав плазмы и стабилизация условий возбуждения; предотвращение сплавления частичек пробы и, тем самым, улучшение стабильности и равномерности процесса испарения. На рис. 2 представлено изменение оптической плотности спектральных линий ΔS контролируемых элементов в зависимости от степени разбавления зольных остатков ЗО биоматериалов УП.

Как следует из рисунка, низкий аналитический сигнал контролируемых элементов наблюдается в случае, когда в качестве основы используют чистый ЗО. При разбавлении его УП до соотношения 1:5 оптическая плотность спектральных линий элементов возрастает

Таблица 3. Влияние химического состава основы пробы на параметры плазмы дугового разряда (n = 5; p = 0,95)

Состав пробы УП с носителем	□ К	Электронная концентрация, 10^{-15} см$^{-1}$	Степень ионизации атомов, %					
			Al	V	Ni	Cu	Co	Cd
Без носителя	6240	1,7	0,90	0,71	0,32	0,28	0,20	0,03
5 % мас. Na	5640	2,2	0,81	0,50	0,13	0,11	0,08	0,01
10 % мас. Na	5450	5,0	0,61	0,23	0,05	0,04	0,03	0,003
5 % мас. Ca	5610	2,9	0,74	0,41	0,09	0,07	0,06	0,01
10 % мас. Ca	5420	3,7	0,70	0,31	0,06	0,05	0,04	0,004

Таблица 4. Содержание микроэлементов в тканях полевых мышей

Место отбора	Содержание микроэлементов, мг/кг в сухом остатке веса							
	V	Ba	Pb	Cr	Mn	Ti	Fe	Ni
з. Ларенский	1,61 ±0,16	21,89 ±2,00	1,10 ±0,10	5,87 ±0,50	9,01 ±0,90	5,05 ±0,50	289,0 ±15,0	0,81 ±0,10
п. Сейка	1,98 ±0,20	50,92 ±5,00	2,72 ±0,30	8,16 ±8,00	60,74 ±6,00	24,61 ±2,50	1750,0 ±80,0	2,25 ±0,20
п. Артыбаш	1,80 ±0,20	27,77 ±3,00	1,60 ±0,15	6,19 ±0,60	14,89 ±1,50	4,14 ±0,40	210,0 ±10,0	2,02 ±0,20

Таблица 5. Содержание микроэлементов в тканях рыб (пескарь сибирский)

Место отбора	Содержание микроэлементов, мг/кг в сухом остатке веса							
	Fe	Pb	Cr	Ni	Mn	Ba	Ti	Be
р. Ушайка п. Заварзино	21,6 ±2,0	0,54 ±0,05	0,42 ±0,05	0,18 ±0,02	2,50 ±0,30	0,17 ±0,20	0,002 ±0,0002	0,024 ±0,002
р. Ушайка п. Степановка	28,0 ±3,0	0,75 ±0,10	0,52 ±0,05	0,19 ±0,02	4,30 ±0,50	0,68 ±0,70	0,004 ±0,0004	0,070 ±0,008
р. Тугояковка с. Батурино	12,7 ±1,0	0,11 ±0,01	0,25 ±0,03	0,09 ±0,01	1,60 ±0,20	0,09 ±0,01	0,001 ±0,0001	0,004 ±0,001

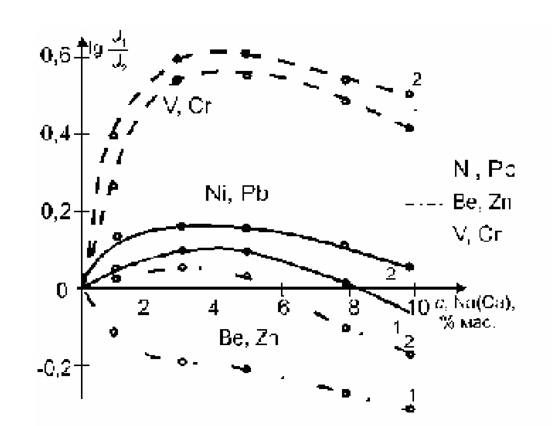


Рис. 1. Влияние матричных элементов на относительное изменение интенсивности спектральных линий микроэлементов: 1) Na; 2) Ca

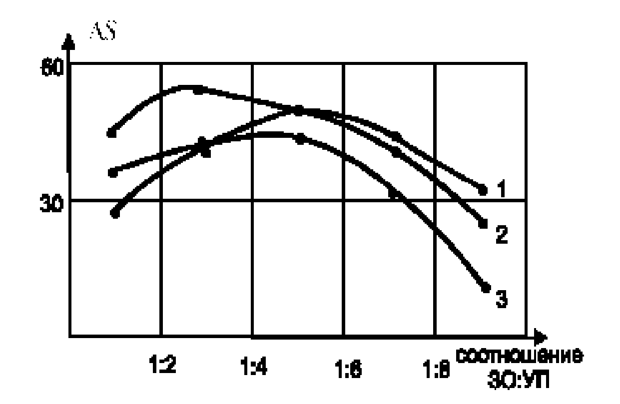


Рис. 2. Влияние степени разбавления зольного остатка угольным порошком на величину оптической плотности спектральных линий (DS): 1) Be, V; 2) Pb, Cu, Al; 3) Ba, Co

(Be, V, Pb, Cu, Al) или значимо не меняется (Ba, Co), хотя концентрация микро примесей уменьшаются. Это, вероятно, связано с тем, что содержание матричных элементов, имеющих низкие потенциалы ионизации, при такой степени разбавления становятся оптимальными как для испарения, так и для возбуждения атомов примесей. В этом случае макрокомпоненты выполняют роль носителей, поэтому в качестве разбавителя лучше использовать чистый УП. При дальнейшем разбавлении ЗО, превышающем пятикратное, эффект уменьшения концентрации становится преобладающим над эффектом усиления оптической плотности спектральных линий, и величина ΔS уменьшается.

Результаты анализов проведенных по предлагаемой методики, для некоторых мелких млекопитающих и рыб представлены в табл. 4, 5. Отлов полевых мышей осуществлялся из Ларенского заповедника, который находится на правом берегу реки Тугояковка в 7 км к югу-востоку от с. Батурино Томской области, из п. Сейка (Алтай) район Синюхинского золоторудного месторождения (в результате добычи золота большое количество токсичных веществ со сточными водами смывается к поселку), а также вблизи п. Артыбаш в северно-западной части правобережья Телецкого озера, который за счет миграции мелких млекопитающих также подвергнут действию золоторудного комбината. Отлов сибирского пескаря осуществляли в п. Степановка, вблизи канализационного стока № 10, в п. Заварзино, вблизи очистных сооружений и в п. Батурино в Ларинском заповеднике.

В результате проведенных анализов реальных биологических объектов, можно сделать вывод о влиянии горнодобывающего предприятия, очистных сооружений и канализационных стоков на экосистему, а также о возможности использования этих объектов в качестве биоиндикаторов.

Заключение

На основании проведенных исследований разработана методика прямого атомно-эмиссионного анализа биологических материалов, позволяющая определять микроэлементы с целью проведения экомониторинга. В качестве градуировочных смесей рекомендуется использовать государственные стандартные образцы на основе графитового порошка с предварительным введением в них преобладающего матричного элемента в количестве, соответствующем его содержанию в пятикратно-разбавленном зольном остатке. Это, как правило, соли Na или Ca, в зависимости от природы биологического материала. Разработанный подход успешно применяется при анализе мелких млекопитающих, земноводных и рыб.

Работа выполнялась при поддержки гранта Минобразования России Е02-12.6-375 “Термодинамическое моделирование плазменных процессов и его использование при разработке и совершенствовании методик анализа объектов окружающей среды методом атомно-эмиссионной спектроскопии”

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карякин А.В., Грибовская И.Ф. Эмиссионный спектральный анализ объектов биосферы. – М.: Химия, 1979. – 207 с.
2. Зырин Н.Г., Обухов А.И. Спектральный анализ почв, растений и других биологических объектов. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977. – 334 с.
3. А.с. 1434315 СССР. МКИ G01N 1/28. Способ подготовки проб на органической основе / З.И. Отмахова, В.И. Кулешов, Г.В. Кашкан и др. // Опубл. в Б.И. № 40 от 30.10.1988 г.
4. Дягилева Е.В., Отмахова З.И., Кулешов В.И. и др. Применение атомно-эмиссионного анализа для контроля чистоты воздуха // Журн. аналит. химии. – 1990. – Т. 45. – № 1. – С. 154–159.
5. Шварценбах Г., Флашка Г. Комплексонометрическое титрование. – М.: Химия, 1970. – 360 с.
6. Стандартные образцы состава графита (комплект СОГ–21) ГСО № 4519–89–4523–89.